

THESIS

MUNICH

1966

HAAS MEDICAL LIBRARY  
STANFORD UNIVERSITY  
800 PASTEUR DRIVE  
PALO ALTO, CALIF.

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ABLAUF  
EPIDERMALER TESTREAKTIONEN AUF MIKROBEN  
UND MIKROBINE BEIM MEERSCHWEINCHEN

Hans Fritz / Loew



AUS DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK UND POLIKLINIK  
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Marchionini †

---

HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ABLAUF  
EPIDERMALER TESTREAKTIONEN AUF MIKROBEN  
UND MIKROBINE BEIM MEERSCHWEINCHEN

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und  
einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Hans Fritz Loew  
aus Chotieschau/Westböhmen

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

|              |                          |
|--------------|--------------------------|
| Referent:    | Prof. Dr. H. RÖCKL       |
| Korreferent: | Prof. Dr. C. G. SCHIRREN |
| Dekan:       | Prof. Dr. R. ZENKER      |

Tag der mündlichen Prüfung: 19. 4. 1966

# DISPOSITION

## A. EINLEITUNG

## B. HISTOLOGIE DES EXPERIMENTELLEN KONTAKTEKZEMS

### I. auf chemisch definierte Substanzen

- a.) beim Menschen
- b.) beim Meerschweinchen

### II. auf Mikroben und Mikrobine

- a.) beim Menschen
- b.) beim Meerschweinchen

## C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### I. Material

- a.) Versuchstiere
- b.) Herkunft und Eigenschaften der verwendeten Staphylokokkenstämme
- c.) Herstellung der Keimsuspensionen und des Kulturfiltrates

### II. Methodik

- a.) Durchführung der Rasur
- b.) Applikation des Materials
- c.) Bewertung der Reaktionen
- d.) Auswahl der zu untersuchenden Tiere
- e.) Anfertigung der histologischen Präparate

### III. Ergebnisse

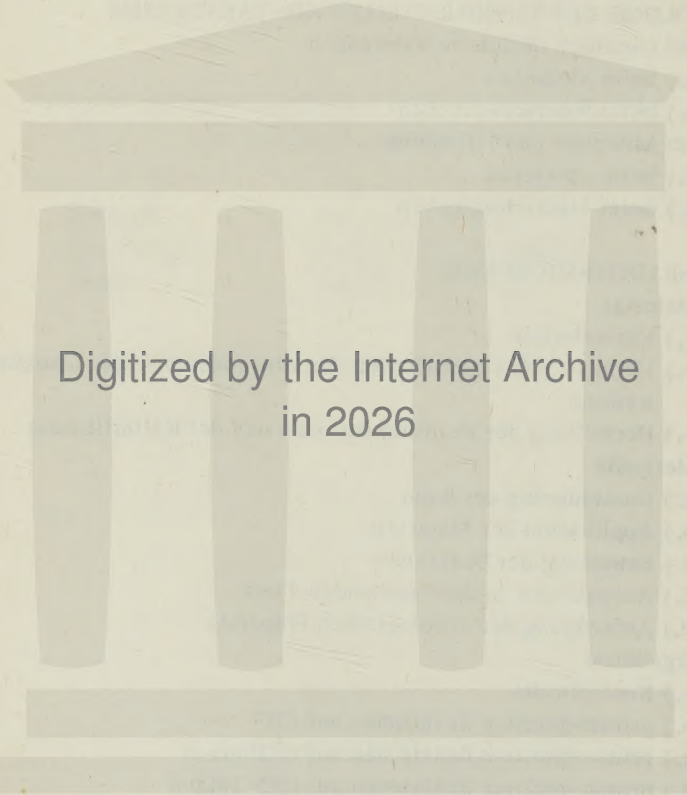
- a.) Kontrolltests
- b.) primär-positive Reaktionen auf CKF
- c.) primär-positive Reaktionen auf CKF 5fach
- d.) primär-positive Reaktionen auf CKF 10fach
- e.) primär-positive Reaktionen auf lebende Staphylokokken

## D. DISKUSSION

## E. ZUSAMMENFASSUNG

## F. LITERATURVERZEICHNIS

## G. LEBENSLAUF



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA40154016\\_0142](https://archive.org/details/IA40154016_0142)

## A. EINLEITUNG

Nachdem durch die Untersuchungen von WILLAN, HEBRA, BESNIER und UNNA die Morphe des Ekzems -zumindest weitgehend- abgeklärt war, konnte sich die Forschung der Ätiologie und der Pathogenese zuwenden. Durch die "chemisch orientierte Forschungsrichtung" (STORCK) unter J. JADASSOHN und seinem Schüler BLOCH und durch die Erfolge, welche die Erkennung der chemisch definierten Substanzen als Ekzematogene in die Ekzemlehre und -therapie brachte, gerieten die Mikroben und ihre Bedeutung für die Genese von Ekzemen fast völlig in Vergessenheit, nachdem sie in der Frühzeit der bakteriologischen Ära durch die "Entdeckung" der grampositiven, Gelatine nicht verflüssigenden Morokokken als "spezifische Erreger des Ekzems" durch UNNA einen ersten Höhepunkt hatten. Vereinzelt veröffentlichten über Arbeiten mit Staphylokokken (SCHOLTZ und RAAB (1900)), BENDER, BOCKHARDT und GERLACH (1901), PETER (1925)) stießen auf starken Widerspruch und wurden bald nicht mehr beachtet. Arbeiten mit Oidiomycin (RAMEL und BENZINGER (1929)), Trichophytin (SULZBERGER und LEWIS (1930)) und Alttuberkulin (NATHAN und KALLOS (1931)) brachten keine wesentlichen Gesichtspunkte für die Rolle von Mikroben in der Ekzergenese. Die dominierende Bedeutung der Staphylokokken in der Genese des mikrobiellen Ekzems wurde dann erst durch die Untersuchungen von ROBERT (1935), STORCK (1948), MIESCHER (1949), RAJKA und Mitarbeiter (1953, 1954, 1956, 1957, 1962), MEYER-ROHN (1953), RÖCKL (1955/1956) und SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL (1963) herausgearbeitet. Es wurde darin gezeigt, daß sich mit lebenden Staphylokokken und verschiedenen Kulturfiltraten im Läppchentest Reaktionen erzeugen lassen, die klinisch und histologisch weitgehend dem Bild der Ekzemreaktion mit einfachen chemischen Substanzen entsprechen, wobei aber vor allem MIESCHER (1936) und seine Schule diese Reaktionen nicht a priori als ekzematös-allergisch interpretieren. Bald wurde auch bei der weiteren Erforschung der Verhältnisse beim mikrobiellen Ekzem auf das Tierexperiment übergegangen, wobei sich nach den Erfahrungen beim experimentellen Ekzem auf chemisch definierte Substanzen vor allem das Meerschweinchen anbot. 1948 kam STORCK bei der Sensibilisierung von Meerschweinchen mit Staphylokokken und deren Stoffwechselprodukten zu ersten Ergebnissen, die er durch seine späteren Untersuchungen (1949, 1950) erweitern konnte. Diese Versuche wurden dann von NICOLAU und BADANOIU (1959) und ASADA (1960) fortgesetzt. Nachdem SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL (1963) darauf hingewiesen

hatten, daß sich die schon von den früheren Untersuchern (STORCK, NICOLAU und BADANOIU, ASADA) erwähnten "primären" Reaktionen (= positive Epicutanreaktion beim erstmaligen, experimentellen Kontakt mit den Mikroben oder Mikrobinen) histologisch nicht von den auslösenden Testreaktionen nach erfolgter Sensibilisierung unterschieden, soll nun in der vorliegenden Arbeit der zeitliche Ablauf der histopathologischen Veränderungen dieser "primär-positiven" Reaktionen untersucht und mit den bisherigen Kenntnissen über das experimentelle Kontaktekzem auf chemisch definierte Substanzen wie auf Mikroben und Mikrobine beim Menschen und beim Meerschweinchen verglichen werden.

## B. HISTOLOGIE DES EXPERIMENTELLEN KONTAKTEKZEMS

### I. AUF CHEMISCH DEFINIERTE SUBSTANZEN

#### a.) beim Menschen

Schon HEBRA hatte die eminente Bedeutung exogener Reize für das Zustandekommen von Ekzemen erkannt. Die Weiterführung dieser Gedankengänge durch J. JADASSOHN und BLOCH führte mit den ersten Sensibilisierungsversuchen mit Jodoform und mit Primelextrakten und der Entwicklung des Lappchentestes in direkter Linie zu den heutigen Kenntnissen der Histologie der ekzematösen Kontaktreaktion beim Menschen, wobei wohl die Befunde und Auslegungen MIESCHER's (1952) als gültig anzusehen sind: MIESCHER verwandte Teststoffe, die von vorneherein als nicht toxisch anzusehen sind (wie z.B. 5 %-ige Ichthyolvaseline, 5 %-ige Vioformvaseline, 1 %-iges Panthesin u. a.) und wählte die Fixierung der Hautschnitte in Bouin'scher Lösung, bei der keine Schrumpfungsprozesse zu befürchten sind. Er fand 6 Std. nach Anlegen der Proben im histologischen Bild des Testareals im Bereich der Basalschicht und von ihr aufsteigend vereinzelte, umschriebene Herde von invadierten Lymphocyten, die Epidermiszellen waren durch einströmendes Exsudat auseinandergedrängt. In den erweiterten Intercellularspalten lagen Lymphocyten; die Epithelzellen waren färberisch und strukturell normal. In der Cutis befanden sich Rundzellinfiltrate aus Lymphocyten und monocytären Elementen, die vorwiegend um die subepidermalen Gefäße angeordnet waren. Nach 12 Std. war die lymphocytäre Invasion in die Epidermis noch ausgesprochener, die spongiotischen Herde in der basalen Epidermis hatten sich ausgedehnt. Nach 24 Std. waren die spongio-

tischen Herde sehr erweitert, waren einander nahegerückt, hatten sich z.T. vereinigt und erreichten vielfach die Epidermisoberfläche. In der Cutis zeigten sich perivasale Lymphocyteninfiltrate mit Ödem der subpapillären Gebiete. Nach 48 Std. hatten sich bei starken Reaktionen große, runde, die ganze Breite der Epidermis einnehmende Räume gebildet (WILLAN'sche Bläschen), in denen Fibrinfäden und Lymphocytenkerne lagen, andererseits waren großräumige, z.T. nach oben durchgebrochene Systeme, manchmal auch kleinere, subcorneale Bläschen zu sehen, die oft reichlich polynucleäre Zellelemente enthielten, sodaß das Bild sehr unübersichtlich wurde. Nun begann auch die Regeneration der Epidermis, die Hornschicht fehlte oder war durch die Exsudation abgehoben und enthielt parakeratotische Kerne.

Diese Befunde MIESCHER's konnten von CHARPY, STAHL und CASTELAIN (1954) und BANDMANN (1960) nachkontrolliert, erweitert und bestätigt werden. CHARPY, STAHL und CASTELAIN fanden bei Excisaten nach 1 Std. Erweiterungen der Blutgefäße im oberen Corium mit Durchwanderung einiger, lymphotischer Zellen und nach 2 Std. ein allmählich das Strat. papillare durchsetzendes Ödem. BANDMANN sah nach 3 - 6 Tagen nicht mehr die Spongiose als vorherrschend, sondern eine Akanthose mit zahlreichen Mitosen; außerdem betonte er besonders den individuell und nach diversen Teststoffen verschiedenen zeitlichen Ablauf der Reaktion.

Im Gegensatz dazu steht die Meinung CIVATTE's (1925), die durch Untersuchungen am genuinen Ekzem gewonnen und später durch POLAK und MOM (1949) und TZANCK und MELKI (1954) an Testreaktionen mit 1 %-igem Paraphenylendiamin und 1 %-igem DNCB nachgeprüft wurde. Sie fanden als erste, faßbare, feingewebliche Veränderung nach 6 Std. im subcornealen Gebiet Gruppen von im Untergang befindlichen Zellen, die noch mit Interzellularbrücken in Verbindung standen, aber geschrumpftes Protoplasma und z.T. pyknotische Kerne zeigten. In der Cutis waren noch keine Veränderungen zu sehen. Nach 12 Std. nahm die Zahl und die Größe der "vésiculettes primordiales" zu und es entwickelten sich von ihnen ausgehend nach der Tiefe zu spongiotische Bezirke. In der Cutis wurden die ersten, entzündlichen Vorgänge sichtbar. Nach 24-48 Std. entstanden durch Ausdehnung der spongiotischen Zonen große, blasige Räume, nun erreichte auch die Entzündung in der Cutis hohe Grade.

Dies ist nach MIESCHER schon ein Zeichen toxischer Reaktion, die in Abhängigkeit des schädigenden Agens von flächenförmigen, achromischen Nekrosen, flächenförmigen Nekrosen mit vakuolären Zerfall (Pseudospongiose), von der Oberfläche ausgehender Blasen- und Pustelbildung mit partiellen Untergang der Epidermiszellen, akantholytischer Dissoziation der Epidermiszellen

mit intradermalen Spaltbildungen bis zu den oben beschriebenen Bildern reichen kann (MIESCHER (1961)).

1963 untersuchten FLEGEL und PLÖTZ die ersten, faßbaren, histologischen Veränderungen zwar beim idiopathischen Ekzem in Reihenschnitten und fanden, daß das Ekzembläschen schräg die Epidermis durchsetzt und vom Strat. basale bis knapp unter das Strat. corneum reicht. Die Verfasser glauben, daß somit sowohl suprabasale Veränderungen im Sinne MIESCHER's, als auch subcorneale Veränderungen im Sinne CIVATTE's gefunden werden können und folgern daraus, daß nach ihren allerdings in sehr kleiner Zahl durchgeführten Untersuchungen diese Kontroverse gegenstandslos sei.

Zusammenfassend gesagt, scheint die tiefe, basale, lymphocytäre Spongiose mit Gefäßdilatation und Rundzellenfiltration in der oberen Cutis als Ausdruck einer Reaktion des cutanvasculären Apparates charakteristisch für das ekzematös-allergische Bild beim Menschen zu sein.

#### b.) beim Meerschweinchen

Schon bald wurde die epidermale Sensibilisierung von Laboratoriumstieren versucht, von denen sich das Meerschweinchen wegen seiner leichten Züchtbarkeit, Billigkeit und einfachen Haltung als zwar nicht ideales, aber doch ausreichendes Versuchsobjekt erwies und sich auch heute immer noch erweist, wobei immer die Tatsache bedacht werden muß, daß sich die Meerschweinchenhaut eben doch anatomisch, morphologisch und funktionell anders verhält als die Menschenhaut (BLOCH und STEINER-WOURLISCH (1930), BURCKHARDT (1938), DE WECK und BRUN (1956), BAER, SIMS und ROSENTHAL (1959), OBERSTE-LEHN und WIEMANN (1959) u. a.).

1926 und 1928 gelang WALTHARD die Sensibilisierung von Meerschweinchen gegen Nickelsulfat und Primelextrakt.

1930 veröffentlichten BLOCH und STEINER-WOURLISCH ihre Ergebnisse bei der Sensibilisierung von Meerschweinchen gegen Primin und führten unseres Wissens als erste dabei histologische Untersuchungen durch. Sie fanden bei den auslösenden Testreaktionen bei sensibilisierten Tieren im histologischen Bild schon nach 2 Std. Erweiterungen der Gefäße, Ödem und Zellvermehrung im Papillarkörper. Nach 20 - 48 Std. war bei den stärksten Reaktionen die Cutis vor allem im obersten Anteil massenhaft von Zellen - vor allem von polymorphkernigen, z.T. auch eosinophilen Leukocyten - angefüllt. Die Gefäße waren

noch stark erweitert. Nun stellten sich auch Veränderungen der Epidermis ein: intercelluläres Ödem und eine Vermehrung der durchwandernden Leukocyten. Es kam zu herdförmig verstreuten Mikroabszessen. Die Epidermis erschien durch das Ödem, durch die Auflockerung des Zellverbandes und durch Akanthose verbreitert. Das entzündliche Ödem führte zu einer Auflockerung des Epidermiszellverbandes. Häufig, aber nicht regelmäßig, nahm dies so starke Grade an, daß eine vollständige Lockerung des Zellverbandes auftrat, ein Zustand, der dem Status spongiosus der menschlichen Epidermis analog zu sein schien. Schließlich entwickelte sich das Bläschen, welches aber nicht regelmäßig zu finden war. Diese Bläschen unterschieden sich vom menschlichen Ekzembläschen durch ihre etwas langgestreckte, spaltartige Form, was nach Meinung der Verfasser wohl durch die große Zahl der Follikel und Haare der Meerschweinchenhaut bedingt war. Die Bläschen wurden in allen Schichten der Haut gefunden (subcorneal, am häufigsten intraepidermal, am seltensten subepidermal). Neben diesen langgestreckten, spaltförmigen Bläschen wurden aber auch rundliche, innerhalb der akanthotischen Epidermis entstandene Bläschen mit leukocyitären, fibrösen Inhalt beobachtet, die bis in's kleinste Detail den typischen Ekzembläschen beim Menschen glichen. Als wichtigste Unterschiede zum Primelekzem des Menschen wurden aufgeführt: meist spaltartige, intradermale Bläschen, völliges Fehlen der Parakeratose, auffällig starke Beteiligung der polynucleären Leukocyten am cutanen und epidermalen Infiltrat.

1931 schilderte R. L. MAYER die histologischen Veränderungen bei Testreaktionen bei gegen Paraphenylendiaminbase (= Ursol) sensibilisierten Meerschweinchen. Schon bei geringer Überempfindlichkeit fiel eine mehr oder weniger starke Verbreiterung des Epithels ohne mikroskopisch sichtbare Veränderungen der einzelnen Epithelzellen und ihrer Anordnung auf. Stets zeigte sich ein erhebliches Infiltrat im oberen Corium, welches sich hauptsächlich aus polynucleären Leukocyten zusammensetzte; zumeist setzte sich dieses Infiltrat in die Epidermis fort und lockerte ihr Zellgefüge auf. Die Veränderungen der Epidermis durchliefen alle Grade der für das Ekzem charakteristischen Erscheinungen (nach Meinung des Verfassers): von geringer Spongiose und Altération cavitaire bis zum intraepidermalen Bläschen und vorwiegend aus polynucleären Zellen gebildeten Pustelchen. Nach 24 Std. sah MAYER im histologischen Bild der Testreaktion Verbreiterung der Epidermis, Altération cavitaire, Spaltbildung in der Epidermis, leukocytaire Mikroabszesse, aus Leukocyten zusammengesetztes Infiltrat im Corium; bei "sehr stark sensibilisierten Tieren" eine weitgehende Zerstörung der Epidermis, langgestreckte, durch Konfluieren mehrerer Bläschen entstandene, intraepidermale Spalten, die mit Zelltrümmern und polynucleären Leukocyten angefüllt waren.

1938 fand BURCKHARDT bei gegen Terpentinöl sensibilisierten Meerschweinchen bei der histologischen Untersuchung der Testreaktionen starke Leukocytenansammlungen in der Cutis und in der Epidermis zahlreiche, subcorneale, intraepitheliale, auch subepitheliale Pustelbildung, nur angedeutete Spongiosen.

Bei der Sensibilisierung von Meerschweinchen gegen Phenylhydroxylamin durch K. und M. SCHWARZ-SPECK (1960) zeigten sich bei den auslösenden Tests folgende histologische Veränderungen: starke, spongiotische Auflockerung der Epidermis, Ödem des Papillarkörpers mit starker Rundzellinfiltration und Einwanderung der Rundzellen in die Epidermis (ohne Angabe des Zeitpunktes der Excision).

1935 begannen LANDSTEINER und Mitarbeiter Sensibilisierungsversuche mit nitrierten und halogenierten Benzolen, unter denen sich das Dinitrochlorbenzol bald als das am besten geeignete Ekzematogen beim experimentellen Ekzem erwies und in der Folgezeit von den meisten Untersuchern verwendet wurde.

1951 untersuchten FREY und STUDER die Wirkung von Cortison auf das experimentelle DNCB-Ekzem des Meerschweinchens und fanden weder eine Beeinflussung der Sensibilisierung und der Erfolgsreaktion noch des histologischen Erscheinungsbildes. Sie beobachteten eine beträchtliche Verdickung der Epidermis, mäßige Hyperkeratose und Parakeratose, Vermehrung der Mitosen im Strat. germinativum. Intraepitheliale Bläschen sahen sie nicht, dagegen wurden im Corium subepitheliales Ödem und ein diffuses Rundzellinfiltrat aus Lymphocyten, seltener aus Plasmazellen und histiocytären Wanderzellen, selten aus neutrophilen Leukocyten entdeckt.

1954 stellte ZELIGMAN fest, daß schon 1 %-iges DNCB in Aceton primär toxisch sein kann. Histologisch fand er dann bei der feingeweblichen Untersuchung der Teststellen nach erfolgter Sensibilisierung ein meist im oberen Drittel des Coriums gelegenes Infiltrat aus vielen, kleinen mononucleären, einigen, großen mononucleären Zellen, seltener aus polymorphkernigen und aus eosinophilen Leukocyten und aus Plasmazellen. Außerdem wurde Ödem und Gefäßdilatation gesehen. Die wichtigsten Veränderungen wurden jedoch in der Epidermis beobachtet: Während nach Applikation von 5 %-igem DNCB eine Nekrose der Epidermis erfolgte, trat nach der Anwendung von 0,1 %-igem DNCB deutliche Spongiosebildung mit intercellulären Ödem und eine mäßige Akanthose auf, die mit Hypergranulose und Hyperkeratose verbunden war.

W. JADASSOHN, BUJARD und BRUN (1955) fanden bei auslösenden Tests an der Brustwarze von sensibilisierten Meerschweinchen im histologischen Bild nach 6 Std. Bildung von typischen Spongiosen in den tiefen und mittleren Lagen der Epidermis, in der Cutis waren entzündliche Reaktionen mit Lympho- und Leu-

kocyteninfiltraten zu sehen. Nach 12 Std. hatten sich die Spongioseherde vergrößert, auch hatte ihre Zahl zugenommen. Nach 21 Std. war dies dann so ausgesprochen, daß von einem Stat. spongiosus gesprochen wurde.

DE WECK und BRUN (1956) fanden nach der Applikation von 0,1 %-igem DNCB bei sensibilisierten Tieren in den Excisaten des Testareals an der Brustwarze ekzematoide Reaktionen mit Spongiose und Vesikelbildung mit lymphocytärer Exocytose, Veränderungen, die sich auch bei Tests an der Flanke auslösen ließen, nur daß sie hier diskreter und nicht immer regelmäßig zu beobachten waren.

1 %-iges DNCB (in Alkohol oder in Aceton) ergab schon eine primäre, toxische Reaktion mit subepidermalen Bläschen und Nekrose der Epidermis.

BAER, ROSENTHAL und SIMS (1957) stellten fest, daß die feingeweblichen Veränderungen der allergischen Reaktionen später (nach 5-6 Std.) auftraten, wogegen die der toxischen Reaktionen schon nach 1 Std. zu bemerken waren. Die allergische Reaktion entwickelte sich langsam und graduell, sie begann im Papillarkörper, erst sekundär zeigte sich dann ein intercelluläres Ödem der Epidermis, das in den mittleren Lagen des Strat. spinosum am stärksten war.

GOLAY und BRUN (1958) konnten nachweisen, daß schon 2 Tage nach dem Beginn der sensibilisierenden Behandlung mit DNCB bei den auslösenden Tests an der Brustwarze im histologischen Bild spongiotische Herde zu entdecken waren, die nach 5-tägiger Sensibilisierung sehr deutlich wurden.

1958 untersuchten FISHER und COOKE eingehend den zeitlichen Ablauf der "allergic and toxic contact dermatitis". Sie testeten sensibilisierte Tiere mit 0,01-0,1 %-igem DNCB (in Olivenöl) und lösten die toxischen Reaktionen mit 2-5 %-igem DNCB (in Olivenöl) aus.

Die Verfasser fanden bei den allergischen Reaktionen bei der histologischen Untersuchung des Testareals nach 3 Std., daß die Kapillaren der oberen und mittleren Cutis erweitert waren. Es war ein geringes, interstitielles Ödem vorhanden. Mononucleäre Zellen hafteten den Gefäßendothelien an und begannen das Gefäßlumen zu verlassen. Eine Anzahl lag schon perivascular, nur wenige befanden sich diffus zwischen den kollagenen Fibrillen. Manche dieser Zellen waren in linearen Zügen angeordnet und strebten der Epidermis zu und wurden dort, sobald sie die Grundmembran hinter sich gebracht hatten, von einer Vakuole umgeben.

Nach 6 Std. zeigten die Epidermiszellen einiger Präparate leichte Proliferation, die Infiltrate in der Cutis hatten sich verstärkt. Die aufsteigenden Züge aus mononucleären Zellen waren nun leicht zu erkennen. Einige dieser Zellen waren, begleitet von Vakuolen, in die Epidermis eingetreten. Nach 9 und

12 Std. fand sich ein diffuses Zellinfiltrat in der oberen Cutis, die Epidermis war gering akantothisch verdickt und enthielt an verschiedenen Stellen invadierte, mononucleäre Zellen, die von Vakuolen variierender Größe begleitet waren. In einzelnen Fällen breitete sich davon zentrifugal ein intercelluläres Ödem in die umgebende Epidermis aus.

Nach 24 Std. erfolgte die Bildung von Mikrovesikeln, weitere Einwanderung mononucleärer Zellen in die Epidermis, Bildung von Vakuolen und zentrifugale Ausbreitung einer intercellulären "Ödem-Spongiose".

In histologischen Präparaten, die mit der Stanze entnommen wurden, zeigten sich immer Hämorrhagien und eine kleine Zahl von polymorphkernigen Leukocyten. Dies wurde von den Autoren auf mechanische Ursachen zurückgeführt, da sich diese Veränderungen bei der Entnahme der Excisate mit Schere und Pincette nicht fanden.

Nach 48 Std. zeigten die epidermalen Veränderungen ihr Maximum, die ganze Epidermis des Testgebietes war von mononucleären Zellen durchdrungen, starke Vakuolisierung durchzog die ganze Breite der Epidermis und die oberen Anteile der Haarfollikel. Mikrovesikeln wurden etwa in der Hälfte der Präparate gefunden und zwar meist in denen, die die stärkste Akanthose aufwiesen. In den folgenden Tagen blieb die Zahl der infiltrierten Zellen etwa gleich, dagegen verschwanden die begleitende Vasodilatation und das interstitielle Ödem allmählich.

Nach 3 Tagen vereinigten sich die Vakuolen nahe der basalen Grundmembran, woraus eine Trennung der Cutis von der Epidermis erfolgte. Die Färbbarkeit der Epidermis war verändert, sie färbte sich schlecht mit Hämalaun. Nach 4 Tagen war die nekrotische Epidermis abgestoßen, es bildete sich eine neue, epidermale Schicht. Nach 5 Tagen verdickte sich die neue Epidermis durch Hyperplasie des Strat. granulosum und des Strat. Malpighi stark.

Bei den toxischen Reaktionen, ausgelöst durch 2-5 %-iges DNCB (in Olivenöl), traten nach 3 Std. noch keine Veränderungen auf. Erste Zeichen fanden sich nach 6 Std., wurden nach 12 Std. deutlich. 5 %-iges DNCB bewirkte eine epidermale Nekrobiose in verschiedenen Abstufungen, bei geringeren Konzentrationen war die Schädigung weniger hervorstechend. Nach 12 Std. war die Reaktion durch interstitielles Ödem und Austritt von polymorphkernigen und mononucleären Zellen (etwa in dem selben Verhältnis wie im Blut) charakterisiert. Nach 24-48 Std. konnte gefunden werden: 1. Totale Ablösung der Epidermis mit vollständiger Nekrose derselben. 2. Teilweise Ablösung der Epidermis mit unvollständiger, epidermaler Nekrobiose. 3. Allgemeine, perinukleäre Vakuolisierung in der Epidermis. 4. Bildung von intraepidermalen Spalten, die mit polymorphkernigen Leukocyten angefüllt waren. Das cutane Infiltrat erreichte bei den 24-48 Std.-Reaktionen seinen Höhepunkt. Nach 3 Tagen begann die

Reparationsphase, von den epidermalen Auskleidungen der Follikel breiteten sich die Epidermiszellen unter der abgestoßenen Epidermis aus. Nach 4 Tagen bedeckte eine neue Epidermis die tiefer liegenden Schichten, nach 5 Tagen verdickte sich diese neue Epidermis durch Vermehrung der Basalzellen.

BAER, SIMS und ROSENTHAL (1959) verglichen die allergischen Reaktionen auf DNCB bei sensibilisierten Tieren auf akanthotischer Haut mit toxischen Reaktionen auf Katharidentinktur. Sie sahen bei der histologischen Untersuchung der allergischen Testreaktionen nach 5-6 Std. noch keine Veränderungen, danach trat Erweiterung und starke Füllung der subepidermalen Kapillaren sowie leichtes, perivaskuläres Ödem und Exocytose auf. Nach 6-7 Std. kam dann Ödem im Strat. Malpighi dazu. Die Exocytose bestand hauptsächlich aus Lymphocyten, später auch aus polynucleären Zellen. Bei leichteren, allergischen Reaktionen wurden die feingeweblichen Veränderungen kaum stärker, bei stärkeren bildete sich nach 8-10 Std. ein zunehmendes, intercelluläres Ödem mit Austritt vieler, polynucleärer Zellen und Spaltbildung im mittleren Teil der Epidermis aus. Diese Spalten wurden allmählich größer und füllten sich mit Flüssigkeit. Nach 24 Std. sahen die Verfasser umschriebene, intraepitheliale Spalt- und Bläschenbildung.

Bei den primär-toxischen Reaktionen auf Kantharidentinktur wurden schon nach 1 Std. schwere und weitfortgeschrittene Veränderungen, wie starkes, parenchymatöses und intercelluläres Ödem der Stachelzellschicht sowie Degeneration des Cytoplasmas und teilweise auch der Kerne bemerkt. Die Zellen waren nur schwach anfärbbar, die Zell- und Kerngrenzen undeutlich, die Intercellularbrücken retrahiert. Dazu kam nun beginnende Spaltbildung. Die Basalzellschicht war ganz oder teilweise desorganisiert. In der Cutis trat eine mäßige, celluläre Reaktion mit Erweiterung der Gefäße, starker Füllung derselben und geringem Austritt von Lymphocyten und polynucleären Leukocyten auf. Nach 2 Std. waren die Zellen der Epidermis unter Verlust der Zellgrenzen, der Kernwände und des intranucleären Chromatins vollständig degeneriert. Die Verfasser bemerkten, daß manche der gefundenen Unterschiede wohl darauf zurückzuführen seien, daß sehr starke Konzentrationen von Kantharidentinktur verwendet worden waren.

GRIMMER und SPIER (1961) fanden auch bei passiver Sensibilisierung (durch intraperitoneale Gabe von Milzsuspensionen sensibilisierter Tiere) bei den Rezipienten histologisch Reaktionen, die sich teils den allergischen, teils den toxischen, teils den alternierend toxisch-allergischen Reaktionstypen zuordnen ließen. Bei den allergischen Tests beobachteten die Verfasser Zellinfiltrate im oberen Corium, umschriebene, basale, spongiotische Herde mit Rundzellimmigration, bei den toxischen Tests gemischtes Infiltrat in der Cutis aus Rundzellen und Granulocyten. Auch fanden sie die untere Epidermis weitge-

hend intakt mit scharfer Abgrenzung zu der peripher offenbar toxisch geschädigten Epidermis.

GRIMMER sensibilisierte 1961 Meerschweinchen "extracutan" mit DNCB durch intralienale und intralymphonoduläre Injektion. Ansammlungen von Lymphocyten in der oberen Cutis bei den auslösenden Tests wurden als "cutan" und die Beteiligung der Epidermis am Reaktionsprozess entweder als "toxisch" oder bei Invasion von Lymphocyten bzw. histiocytären Elementen in die Basalzellschicht und Auftreten von spongiotischen Erscheinungen nicht als Ekzemreaktion, sondern, nichts präjudizierend, als "epidermale" Beteiligung bezeichnet.

HUNZIKER (1961, 1962, 1963, 1964) fand bei ihren verschiedenartigen Versuchen mit DNCB und anderen Substanzen bei sensibilisierten Tieren mikroskopisch wie makroskopisch ekzematöse Reaktionen.

GROTH (1963, 1964) sah bei passiv (mit Lymphknoten- und Thymusextrakten von mit DNCB sensibilisierten Meerschweinchen) sensibilisierten Tieren bei den auslösenden Tests im histologischen Bild eine mäßige Akanthose, geringe, herdförmige, basale Spongiose und Infiltrate von Rundzellen im oberen Corium. Bei aktiv mit DNCB sensibilisierten Tieren beobachtete er, je nach Dauer der sensibilisierenden Behandlung, wechselnd starke Akanthose, basale Spongiose und Rundzellinfiltrate im oberen Corium.

1964 wurden von KLASCHKA nach epicutaner Erstaustestung mit 1 %-igem DNCB (in Olivenöl) und mit 0,1 %-igem DNCB (in Aceton) bei intraperitoneal nach LANDSTEINER sensibilisierten Meerschweinchen folgende, histologische Veränderungen gesehen. Nach 24 Std. traten deutliche, z.T. diffuse, z.T. perivaskulär angeordnete Rundzellinfiltrate im oberen Corium mit nur vereinzelt neutrophilen und eosinophilen Leukocyten auf. Dazu kam ödematöse Durchtränkung und Auflockerung des kollagenen Gewebes, vorwiegend im oberen Cutisdrittel bzw. subepidermal. Das verbreiterte Epidermisband zeigte noch geringe, spärlich-diffuse Rundzellimmigration, die einzelnen Zellen waren bisweilen von meist ziemlich unauffälligen Vakuolen umgeben. Es bestand intra- und intercelluläres Ödem wechselnden Grades. Suprabasale Lymphocytenansammlungen bzw. stärkere, epidermale Rundzellinfiltration im Sinne einer für die allergische Ekzemreaktion charakteristischen Spongiose waren praktisch nicht oder nur sehr gering ausgebildet. Ebenso kam es auch nach 48 Std. nicht zur Ausheilung einer Spongiose oder Vesikation.

Faßt man nun die Vielzahl der von den verschiedenen Autoren erhobenen Befunde zusammen, so muß man zu dem Schluß kommen, daß die kontaktallergische Reaktion des Meerschweinchens mit derjenigen des Menschen weit-

gehend übereinstimmt; Auch hier beginnt die Reaktion mit entzündlichen Vorgängen in der Cutis wie Gefäßdilatation, perivaskuläres Ödem und Exocytose, Einwanderung von monocytären Zellen in die ödematös aufgelockerte Epidermis. Unterschiedlich ist wohl die mehr diffuse, cutane Infiltration im Gegensatz zu der mehr perivaskulär angeordneten beim Menschen, die nicht ganz so regelmäßige, dezentere ödematös-spongiotische Auflöckerung der Epidermis, die nie solch starke Grade annimmt, daß sie letzten Endes makroskopisch sichtbar wird, wie dies bei menschlichen Kontaktreaktionen geschehen kann.

## II. AUF MIKROBEN UND MIKROBINE

### a.) beim Menschen

Wie schon betont, ließen die Erfolge der experimentellen Ekzempforschung mit den einfachen, chemisch definierten Substanzen die Rolle der Mikroben in den Hintergrund treten. Die eingangs erwähnten Arbeiten mit Bakterien wurden meist schroff abgelehnt oder gar nicht beachtet.

Erst ROBERT (1935) aus der Klinik MIESCHER's stellte die Bedeutung der Staphylokokken für die Genese des mikrobiellen Ekzems heraus und betonte, daß die von ihm mit Staphylokokkenbouillonkulturfiltraten erzeugten Reaktionen klinisch wie histologisch (typischer Status spongoides mit mehr oder weniger ausgeprägtem, entzündlichem Infiltrat in der Cutis) dem Bild der Ekzemreaktion entsprachen.

1948 fand STORCK, daß sich die Mikrobenbesiedlung des Ekzems nicht qualitativ, sondern nur quantitativ von der der gesunden Haut unterschied. Er erzielte nicht nur mit lebenden Keimen, sondern auch mit Bouillonkulturfiltraten positive Hauttests, die im histologischen Bild umschriebene, lymphocytäre Spongiosen neben oberflächlich gelegenen, durch Kernpyknose und verminderte Färbbarkeit auffallende Schädigungszonen zeigten, Veränderungen, die MIESCHER (1949) als toxisch interpretiert.

1955/1956 testete RÖCKL mit lebenden Bakterien, Kulturfiltraten, mit abgetöteten Bakterien (er erhielt hierbei aber in geringem Prozentsatz positive Reaktionen, sodaß daraus der Schluß gezogen wurde, daß die Ekzematogene vorwiegend an lebende Bakterien gebunden seien.), mit lebenden Staphy-

lokokken und Ekzemherddetritus, womit er die meisten positiven Resultate bekam. Das histologische Bild war nicht einheitlich, neben Erscheinungen des klassischen Ekzems (tiefe, umschriebene, lymphocytäre Spongiose) traten auch subcorneal gelegene, achromisch-pyknotische Bläschen auf, in denen sich entweder Lymphocyten oder mehr oder minder zahlreich segmentkernige Leucocyten fanden. Die Epidermis war akanthotisch verbreitert, die Cutis zeigte mäßige bis massive, meist aus Lymphocyten zusammengesetzte, perivaskuläre Infiltrate.

1963 untersuchten MÜLLER, SCHRÖPL und RÖCKL mit Staphylokokkencellophankulturfiltraten und -bouillonkulturfiltraten erhaltene, positive Reaktionen nach subtotaler Entfernung des Strat. corneum mit der Abrißmethode histologisch und sahen dabei vor allem in den mittleren und insbesondere in den oberen Rete Malpighi-Schichten und im Strat. granulosum gelegene, herdförmige, achromische Nekrosen und unterschiedlich große, spongiotische Bläschen und Bläschenbezirke, die vorwiegend Rundzellen enthielten. Nur ganz vereinzelt wurden in den unteren Epidermispartigen lokalisierte Spongiosen bzw. spongiotische Bläschen beobachtet. Das massive, fast ausschließlich aus Rundzellen bestehende, cutane Infiltrat war teils diffus, im wesentlichen jedoch perivaskulär und teils auch um die Schweißdrüsen angeordnet.

1963 testeten SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL mit unkonzentriertem und 10-fach konzentriertem Cellophankulturfiltrat von *Staphylococcus aureus* (haem.) auf normaler Haut. Die Histologie der positiven Reaktionen auf unkonzentriertes und 10-fach konzentriertes Cellophankulturfiltrat unterschied sich nur dadurch, daß die Intensität der Reaktionen in einem gewissen Abhängigkeitsverhältnis zur Konzentration stand. Nach 3 Std. waren die oberflächlichen Capillaren erweitert, einzelne Rundzellen verließen das Gefäßlumen, diese Veränderungen nahmen nach 6 Std. zu. Nach 9 Std. waren bereits basale, spongiotische Auflockerungsherde in der Epidermis zu erkennen. Nach 24 Std. waren recht beträchtliche, perivasale Rundzellularinfiltrate im oberenen, ödematös aufgelockerten Corium zu sehen. Nicht in allen Excisaten waren typische, basale, spongiotische Bläschen vorhanden; einige Präparate zeigten auch ausgesprochene pustulöse Reaktionen in Form von intraepidermalen, mit neutrophilen Leucocyten angefüllten Bläschen. Jedoch enthielt das coriale Infiltrat auch hier nur ganz vereinzelt neutrophile Leukocyten. Nach 48 Std. hatte das Rundzellinfiltrat im oberen Corium noch an Stärke zugenommen, die Epidermis zeigte vereinzelt basale, spongiotische Auflockerungen und Bläschen mit Zellinvasion, jedoch waren auch Pusteln zu sehen.

Zusammenfassend gesagt, zeigen sich also auch bei epicutanen Testungen mit Mikroben und Mikrobinen im histologischen Bild spongiotische, zur Bläschen-

bildung führende, von Lymphocyten durchsetzte Herde, wobei die Epithelzellen deformiert, z.T. färberisch aufgeheilt sein können, ohne daß sie ausgesprochen geschädigt erscheinen (RÖCKL), in späteren Stadien finden sich ebenfalls größere Bläschen, in denen Reste des epithelialen Gerüsts, Lymphocyten und daneben auch polynucleäre und gelegentlich auch eosinophile Leukocyten liegen. Außerdem kommen aber subcorneal gelegene - vor allem bei Reaktionen auf lebende Keime- Hohlräume zur Beobachtung, welche durch spongiotische Auflockerung einiger Epithelzellen mit meist pyknotisch geschrumpften oder achromischen Kernen entstehen, die den "vésiculettes primordiales" CIVATTE's gleichen und die häufig reichlich polynucleäre Leukocyten enthalten. Dieser Reaktionstyp ist häufig follikulär angeordnet und scheint wohl toxischer Natur zu sein. In der Cutis finden sich mehr oder weniger starke, perivascular angeordnete Infiltrate aus Rundzellen, z.T. auch aus segmentkernigen Leukocyten.

#### b.) beim Meerschweinchen

Nachdem sich gezeigt hatte, daß sich die Verhältnisse des experimentellen, menschlichen Kontaktekzems auf einfache, chemische Verbindungen mit denen des Meerschweinchens weitgehend decken, lag der Gedanke nahe, auch bei diesen Versuche mit Bakterien und deren Stoffwechselprodukten anzustellen.

1948 veröffentlichte STORCK zum ersten Male seine Ergebnisse, die er bei dem Versuch, Meerschweinchen mit Staphylokokken epidermal zu sensibilisieren, erhalten hatte. Er rieb die epilierte Flanke der Tiere mit Staphylokokkenkultur ein, wiederholte diese Einreibungen zu verschiedenen Zeitpunkten. Die Reaktion äußerte sich klinisch in Rötung, Schwellung und Knötchenbildung von wechselnder Intensität bis zu Nässen und Krustenbildung. Die Histologie der 24 Std.-Reaktionen zeigte neben lymphocytärer und leukocytärer Infiltration im Papillarkörper und neben Zelldurchwanderung in die Epidermis herdweise, spongiotische Auflockerungen im Strat. basale und im Strat. Malpighi.

Die Cutis war in der Regel dicht von Lymphocyten, vereinzelt auch von Leukocyten durchsetzt. Die Frage der eingetretenen Sensibilisierung gegenüber den Keimen ist nach STORCK nicht ohne weiteres zu beantworten, da ein Teil der Tiere schon beim ersten Kontakt mit einer deutlichen Reaktion antwortete. 1949 und 1950 veröffentlichte STORCK seine weiteren Untersuchungen. "Fast sämtliche 55 in den Versuch genommene Tiere" konnten durch wiederholte Einreibung von lebenden Staphylokokken oder von Bouillonfiltraten deutlich

ekzematös sensibilisiert werden. Im histologischen Bild der 24-48 Std.-Reaktionen wurde stets Akanthose, Gefäßerweiterung mit leichter Lympho- und Leukocytenauswanderung gesehen, stellenweise waren die tieferen Epithelschichten durch intercelluläres Ödem aufgelockert, vereinzelt waren subcorneale und intrafollikuläre Mikroabszesse zu beobachten. In einzelnen, stärker reagierenden Fällen kam es zu ausgesprochener, ödematöser Auflockerung der Cutis mit mehrkammeriger, blasiger Lückenbildung der unteren Epidermisschichten.

1959 testeten NICOLAU und BADANOIU mit lebenden Mikroben, abgetöteten Mikroben, tryptischen und peptischen Lysaten und konnten damit nach percutaner Anwendung Meerschweinchen sensibilisieren, fanden aber in den histologischen Präparaten der Testfelder nur eine Verdickung des Strat. Malpighi mit leichter Hyperkeratose ohne Zeichen des Status spongoides oder einer Vesikulation. Zudem sahen sie ödematöse Infiltration im Strat. papillare und Erweiterung der Capillaren im oberen Corium. Die erweiterten Capillaren waren von einem Zellinfiltrat umgeben.

1960 sensibilisierte ASADA Meerschweinchen mit Bouillonkulturen und Kulturfiltraten und sah bei den auslösenden Testungen im histologischen Bild eine mäßige Akanthose, geringen Spongiose und perivasculäre Infiltrate aus Lymphocyten und neutrophilen Leukocyten; vereinzelt beobachtete er auch subcorneale oder intraepidermale Mikroabszesse.

SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL (1963) sensibilisierten und testeten Meerschweinchen mit lebenden Staphylokokken und Staphylokokkencellophankulturfiltrat und konnten durch fortlaufende, epicutane Applikation die Sensibilisierung erreichen. Sie erkannten auch, daß das histologische Bild der auslösenden Testreaktion nach erfolgter Sensibilisierung weitgehend dem der sogenannten primär-positiven Reaktion, die schon STORCK, NICOLAU und BADANOIU, ASADA erwähnt hatten, entspricht. Die Verfasser fanden im histologischen Bild der 24-48 Std.-Reaktionen bei Auslösung mit lebenden Staphylokokken ein mäßiges, vorwiegend aus Rundzellen bestehendes Infiltrat im oberen Corium, das perivasal angeordnet und von dem die Rundzellen straßenartig zur Epidermis zogen. In der Epidermis waren vorzugsweise in den unteren Epidermisanteilen lokalisierte, spongiotische Herde, ferner tiefe, spongiotische Bläschen, die größtenteils mit segmentkernigen, neutrophilen Leukocyten angereichert waren, zu finden. Bei den mit dem Cellophankulturfiltrat gewonnenen Excisaten wurden ähnliche Bilder beschrieben, wobei betont wurde, daß schon bei Excisaten nach 5 bzw. nach 14 Std.-relativ frühzeitig also- basale Spongiosen und perivasale Rundzellinfiltrate gefunden wurden.

Daraus wird ersichtlich, daß wiederum die Reaktionen des Meerschweinchens

auf Bakterien und deren Stoffwechselprodukte durchaus mit denen des Menschen vergleichbar sind. In der Cutis sind ödematöse Auflockerung der oberen Partien mit Gefäßerweiterung, Lymphocyten- und Leukocytenemmigration, Auflockerung der tiefen Epithelschichten und Einwanderung von Rundzellen, Ausbildung von wiederum dezenteren, nicht ganz so regelmäßigen, spongiotischen Herden zu sehen. Vereinzelt sind auch subcorneale Mikroabszesse anzutreffen, die wiederum ein Zeichen einer toxischen Komponente sein könnten.

## C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### I. MATERIAL

#### a.) Versuchstiere

Es wurden Albino-Meerschweinchen beiderlei Geschlechts im Gewicht von 300 - 450 gr aus fremder, später aus eigener Zucht verwendet. Die Tiere wurden in hölzernen Gemeinschaftskäfigen gehalten, wurden aber zu den Versuchen in Metalleinzelkäfige gebracht.

#### b.) Herkunft und Eigenschaften der verwendeten Staphylococcus aureus (haem.)-Stämme (s. Tabelle I, Seite 20)

| Stamm<br>Nr. | Diagnose                        | Farb-<br>stoff-<br>bildung | Hämo-<br>lyse | Plasma -<br>koagu-<br>lation | Phos-<br>pha-<br>tase | Mannit-<br>vergä-<br>rung |
|--------------|---------------------------------|----------------------------|---------------|------------------------------|-----------------------|---------------------------|
| 1            | Pyodermia ulc.<br>serpiginosa   | ++                         | +++           | ++++                         | ++++                  | ++                        |
| 2            | mikrobielles<br>Ekzem           | +++                        | +++           | ++++                         | ++++                  | ++                        |
| 3            | mikrobielles<br>Ekzem           | +++                        | +++           | ++++                         | +++                   | ++                        |
| 4            | mikrobielles<br>Ekzem           | ++++                       | ++++          | ++++                         | ++++                  | ++                        |
| 5            | Folliculitis<br>disseminata     | +++                        | ++            | +++                          | ++++                  | ++                        |
| 6            | mikrobielles<br>Ekzem           | ++++                       | +++           | ++++                         | +++                   | ++                        |
| 7            | Folliculitis<br>barbae          | +++                        | +++           | ++++                         | +++                   | ++                        |
| 8            | Pemphigus<br>seborrhoicus       | +++                        | +++           | ++++                         | +++                   | ++                        |
| 9            | mikrobielles<br>Ekzem           | +++                        | ++++          | ++++                         | +++                   | ++++                      |
| 10           | Staphylodermia<br>superficialis | +++                        | ++++          | ++++                         | +++                   | ++                        |

TABELLE I. Herkunft und Eigenschaften der verwendeten 10 Staphylococcus aureus (haem.)-Stämme.

### c.) Herstellung der Keimsuspension und des Kulturfiltrates

Die 10 verwendeten Staphylokokkenstämme wurden auf Schrägagarröhrchen bei + 4° C gehalten und in 6-8 wöchigen Abstand nach Passage über Blutagarplatten neu überimpft. Zur Herstellung der Keimsuspensionen benützten wir bei + 37° C 24 Std. bebrütete Schrägagarkulturen, die mit je 3 ml 0,85 %-iger NaCl-Lösung abgeschwemmt und nach Zusammenschütten gut durchgemischt wurden. Im Anschluß an 10-minütiges Zentrifugieren bei 3000 U/min und Abgießen des Überstandes wurde der Bodensatz in 3 ml des Überstandes resuspendiert.

Für die Herstellung der Kulturfiltrate bedienten wir uns der von BIRCH-HIRSCHFELDT angegebenen, in jüngster Zeit von BEHOUNKOVA und Mitarbeiter wieder aufgegriffene Methode der Züchtung von Keimen auf Cellophanfolien auf der Oberfläche fester Nährböden, wodurch eine Verunreinigung des Kulturfiltrates durch Ballaststoffe aus dem Nährmedium weitgehend vermieden wird. Aus handelsüblichen Cellophan wurden kreisrunde, den Plattendurchmesser von etwa 11 cm um 2 cm überragende Stücke geschnitten, in strömenden Wasserdampf sterilisiert, unter Einhaltung steriler Kautelen auf 5 % Menschenblutagar gelegt und mit einem Drigalski-Spatel vorsichtig an das Nährmedium angedrückt, um Luftblasen zu beseitigen. Der nach oben gebogene Rand des Cellophans reichte dabei fast bis an den oberen Rand der Schale. Zur Gewinnung einer Charge des Filtrates wurden von jedem der 10 Stämme 3 Platten beimpft und zwar mit je einem Drittel der Abschwemmung einer 24 Std. bei + 37° C bebrüteten Schrägagarkultur mittels phosphatphysiologischer Lösung (p<sub>H</sub> 7,2) nach Zentrifugieren (10 min bei 2000 U/min) und Resuspendieren des Bodensatzes in 1 ml phosphatphysiologischer Lösung. Die Bebrütung der beimpften Platten erfolgte 24 Std. lang bei + 37° C in Glasgefäßen mit eingeschliffenen Deckeln, in welchen durch Einbringung von abgewogenen CO<sub>2</sub>-Schnee eine 10 %-ige CO<sub>2</sub>-Spannung erzeugt wurde.

Nach zweimaligen Abschwemmen von der Oberfläche des Cellophans mit je 1 ml phosphatphysiologischer Lösung wurde die von allen 30 Platten gewonnene Suspension durchgemischt, zunächst 24 Std. bei + 4° C belassen, dann bei 3000 U/min 20 min lang zentrifugiert, wonach sich der Großteil der Bakterien im Bodensatz befand. Der abpipettierte Überstand wurde unter Verwendung eines Thiessen-Filter (Fa. Membranfilter-Ges., Göttingen, Typ GC 9, Membranfilter) bei 1-1,5 kg/cm<sup>2</sup> Überdruck (Stickstoff) bakterienfrei filtriert. Das so erhaltene, wasserklare, etwas gelb gefärbte Filtrat wurde anschließend bei -20° C eingefroren und aufbewahrt. Nach Bedarf wurden entsprechende Mengen in Ampullen abgefüllt, wobei jeweils Sterilitätsuntersuchungen vorgenommen wurden.

Die Ausbeute einer Charge von insgesamt 30 Platten (3 Platten von jedem der 10 Stämme) betrug zwischen 40 - 50 ml Cellophankulturfiltrat (im folgenden als CKF abgekürzt).

## II. METHODIK

### a.) Durchführung der Rasur

Die Haare im Versuchsfeld wurden kurz vor der Applikation des Materials mit einem elektrischen Rasierapparat ("Forfex", 1/20 mm Scherkopf) entfernt. Bei vorsichtiger Rasur konnte keine Irritation der Haut festgestellt werden, wogegen sich nach "scharfer" Rasur eine geringe Hautrötung zeigte, die jedoch nach einigen Minuten wieder verschwand.

### b.) Applikation des Materials

Auf der vorrasierten Flanke wurde ein etwa 1,5 cm im Durchmesser großes Versuchsfeld ausgewählt. Die stets frisch zubereitete Keimsuspension wurde mit einem weichen Wasserfarbenpinsel aufgetragen, vom CKF wurde 0,05 ml mit dem Ansatzstück einer Tuberkulinspritze zart und gleichmäßig aufgetragen. Das Versuchsfeld wurde dann mit einem Uhrglas bedeckt; dies ließ sich dann leicht mit Heftpflaster an der umgebenden, nicht rasierten Haut befestigen. So konnten von einem Tier bis zu 4 Excisate auf einmal entnommen werden.

### c.) Bewertung der Reaktionen

|          |   |                                                                      |
|----------|---|----------------------------------------------------------------------|
| Ø        | = | keine sichtbare Reaktion                                             |
| <u>+</u> | = | einzelne, gering gerötete Fleckchen im Testfeld                      |
| (+)      | = | Testfeld flächenhaft gering gerötet                                  |
| +        | = | Testfeld flächenhaft mäßig gerötet mit einzelnen Papeln              |
| ++       | = | Testfeld mäßig bis stark gerötet, geschwollen mit zahlreichen Papeln |

TABELLE II. Bewertung der Reaktionen nach epicutaner Applikation von lebenden Staphylokokken oder von CKF.

#### d.) Auswahl der zu untersuchenden Tiere

Zur Untersuchung gelangten nur Tiere, die nach 24 Std. eine zumindest als (+) imponierende Reaktion zeigten. Zur Gewinnung von Excisaten zu früheren Zeitpunkten wurden diese Tiere dann am nächsten, spätestens aber am übernächsten Tag erneut getestet.

#### e.) Anfertigung der histologischen Präparate

Die Hautexcisionen wurden mit Pincette und Schere in Äthernarkose oder nach Tötung der Tiere durchgeführt, wobei zu bemerken ist, daß in beiden Fällen die Reaktionen vorher abgelesen wurden. Das entnommene Gewebe wurde teilweise in Formalin, in der Regel jedoch in Bouin'scher Lösung fixiert, in Paraffin eingebettet. Von jedem Präparat wurden in der Regel 10-20 Schnitte angefertigt (Schnittdicke 5,5-7,0  $\mu$ ) und diese mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt.

### III. ERGEBNISSE

Im Ganzen wurden 162 Excisate einschließlich der Kontrollexcisate histologisch untersucht. Einen Überblick über Zahl und Art der Excisate sowie über den jeweiligen Zeitpunkt der Excision gibt Tabelle III.

| Testsubstanz                  | Zeitpunkt der Entnahme (Std.) |   |   |    |       |    |    | Gesamt |
|-------------------------------|-------------------------------|---|---|----|-------|----|----|--------|
|                               | 3                             | 6 | 9 | 12 | 20/24 | 48 | 72 |        |
| lebende Staphylokokken        | 7                             | 7 | 7 | 3  | 8     | 3  | 3  | 38     |
| CKF unkonzentriert            | 7                             | 9 | 7 | 10 | 20    | 8  | 3  | 64     |
| CKF 5-fach konzentriert       | -                             | 3 | - | 3  | 2     | 5  | 3  | 16     |
| CKF 10-fach konzentriert      | -                             | 3 | - | 3  | 6     | 6  | -  | 18     |
| Leer-CKF                      | -                             | 2 | - | 2  | 4     | -  | -  | 8      |
| Leer-CKF 10-fach konzentriert | -                             | 2 | - | 2  | 4     | -  | -  | 8      |
| NaCl 0,85 %                   | 2                             | 2 | 2 | 2  | 2     | -  | -  | 10     |
|                               |                               |   |   |    |       |    |    | 162    |

TABELLE III. Übersicht über die Zahl der entnommenen Excisate unter Berücksichtigung des Zeitpunktes der Excision und der verwendeten Testsubstanz.

## a.) Kontrolltests

Die mit 0,85 %-igem NaCl durchgeführten Kontrolltests, von denen Excisate nach entsprechender Einwirkungszeit entnommen wurden, sollten einen etwaigen Einfluß der vorausgegangenen Rasur auf das histologische Bild ausschließen. Nach zarter Rasur fanden sich klinisch in keinem Falle sichtbare Veränderungen im Testareal, histologisch wurden vereinzelt kleinste, subcorneale Pusteln mit einer geringgradigen Vermehrung der lymphocytären Zellen im oberen Corium gesehen.

Die Kontrollen mit dem sogenannten Leer-CKF (dieses Material wurde in der gleichen Weise hergestellt, wie es oben für das CKF beschrieben wurde, nur daß an Stelle der lebenden Keime eine entsprechende Menge der sonst verwendeten Puffersubstanz verwendet wurde), das unkonzentriert und 10-fach konzentriert zur Anwendung kam, sollten zur Überprüfung der Wirkung der Ballaststoffe dienen. Klinisch wurde bei 43 Tieren nach 24 und 48 Std. keine sichtbare Reaktion bemerkt. Excisate nach 6, 12 und 24 Std. zeigten ebenfalls eine mäßige, gelegentlich auch stärkere Vermehrung der lymphohistiocytären Zellelemente im oberen Corium, häufiger fanden sich auch perivaskuläre Rundzellinfiltrate geringen Ausmaßes. Epidermale Veränderungen im Sinne einer Spongiose wurden nicht gesehen. Zu betonen wäre noch, daß die Excisate nach Leer-CKF nur bei solchen Tieren entnommen wurden, die auf das gleichzeitig mitgetestete CKF nach 24 Std. eine mindestens mit + bewertete Reaktion boten.

## b.) Primärreaktion nach Epicutantest mit unkonzentriertem CKF

### 1.) 3 Std.-Reaktion

Bei den insgesamt 7 histologisch untersuchten Excisaten waren zum Zeitpunkt der Entnahme auf dem Testareal keine makroskopischen Veränderungen festzustellen mit Ausnahme eines, das klinisch mit + bewertet wurde. Im histologischen Bild zeigte sich bei allen Excisaten -abgesehen von einigen, offensichtlich invadierten Rundzellen- eine vollkommen normale Epidermis. Mitunter waren nur im Bereich der Follikelostien segmentkernige Leukocyten enthaltende Hohlräume zu finden, die aber unberücksichtigt blieben, da sie -offenbar Rasurfolge- auch bei den Kontrollexcisaten zu finden waren. Wesentliche Veränderungen zeigten sich aber im oberen Corium. In und um die weitgestellten Capillaren fanden sich in mäßiger Zahl Rundzellen, die eine gewisse, aufsteigende Tendenz erkennen ließen.

## 2.) 6 Std.-Reaktion

Bei der klinischen Bewertung der 9 Excisate wurde 4 mal + gegeben, die übrigen zeigten keinerlei, makroskopisch sichtbare Veränderungen. Die Histologie ergab bei allen Excisaten eine intakte Epidermis, die aber mehrere, invadierte Rundzellen aufwies. Im oberen Corium aber war -auch bei den klinisch negativen Präparaten- eine Vasodilatation mit einem mäßig starken Rundzelleninfiltrat festzustellen. Die Rundzellen waren vielerorts straßenartig gegen die Epidermis ziehend angeordnet.

## 3.) 9 Std.-Reaktion

Nur 4 der 7 untersuchten Präparate zeigten klinisch eine mit (+) bewertete Reaktion. Im histologischen Bild dagegen fanden sich bei allen -auch bei den klinisch negativen- z.T. herdförmige, z.T. diffuse, dicht unter der Epidermis gelegene Rundzellinfiltrate, die nur ganz vereinzelt Neutrophile enthielten. Die Capillaren des oberen Coriums waren erweitert. Zu diesem Zeitpunkt zeichnete sich schon der individuell verschieden rasch ablaufende Reaktionstyp ab. Während sich bei 3 der Präparate (davon wurden 2 klinisch mit (+), 1 mit  $\emptyset$  bewertet) schon jetzt deutliche, basale Spongiosen fanden (Abb. 1), konnten bei allen übrigen Präparaten gegenüber den 6 Std.-Reaktionen kein qualitativer Unterschied festgestellt werden. Die Tendenz der Rundzellen des Infiltrates zur Invasion in die Epidermis war jedoch in allen Schnitten deutlich. Für "toxische" Reaktionen (Achromasie, Nekrose der Epidermis oder Abhebung derselben) fand sich in keinem der Präparate ein Anhalt.

## 4.) 12 Std.-Reaktion

Die 10 Präparate wurden klinisch wie folgt bewertet: 3 mit  $\emptyset$ , 3 mit +, 3 mit (+) und 1 mit ++. Je nach Stärke der klinischen Reaktionen waren auch die histologischen Veränderungen verschieden stark ausgeprägt. Der individuell verschieden rasche Reaktionsablauf war noch deutlicher. Es fand sich aber regelmäßig, d.h. auch bei den klinisch negativen Präparaten, eine herdförmige, basale Spongiose (Abb. 2), die bei den 4 klinisch positiven Präparaten ((+) bzw. ++) besonders ausgeprägt war. Auch die schon erwähnte Capillarerweiterung bestand noch. Neben den ebenfalls schon erwähnten neutrophilen Leukocyten wurden bei einigen Tieren unter den Rundzellen auch mehrere eosinophile Leukocyten beobachtet.

#### 5.) 20 bzw. 24 Std.-Reaktion

Da die Reaktionen nach 20 Std. (3 Schnitte) sich nicht von denen nach 24 Std. unterschieden, erfolgt die Besprechung gemeinsam. Die makroskopischen Veränderungen wurden bei allen Tieren mit Ausnahme eines auch histologisch negativen Falles mit + bewertet. Die Histologie der Präparate zeigte deutliche, basale, mitunter im Follikelepithel lokalisierte Spongiosen, z. T. Bläschen (Abb. 3), wobei die Invasion der Rundzellen in die Epidermis sehr deutlich war. Die Epidermis erschien im Ganzen etwas verbreitert. Lediglich in einem Präparat konnte ein spongiotisches Bläschen mit vorwiegend neutrophilen Leukocyten (Pustel) beobachtet werden. Im ödematös aufgelockerten oberen Corium fanden sich erweiterte Gefäße sowie ein größtenteils diffuses, mäßig starkes Infiltrat aus Rundzellen, das aber auch vereinzelt neutrophile und eosinophile Leukocyten enthielt. Es konnten aber in keinem der Präparate Zeichen einer "toxischen" Reaktion festgestellt werden. Zu erwähnen wäre noch, daß bei einzelnen Präparaten bei starker, corialer Reaktion nur dezente Veränderungen in der Epidermis zu sehen waren.

#### 6.) 48 Std.-Reaktion

Die klinische Bewertung der Präparate erfolgte 5 mal mit (+), 2 mal mit + und 1 mal mit ++. Die Histologie zeigte eine Verbreiterung der Epidermis auf 5-8 Zellagen mit einer mäßigen Orthohyperkeratose. Ausgesprochene spongiotische Bläschen wurden nur mehr vereinzelt angetroffen. Das Infiltrat hatte im Vergleich mit den 24 Std.-Reaktionen an Intensität abgenommen, jedoch bestand noch immer die Tendenz der Rundzellen in die Epidermis einzudringen (Abb. 4). Bei dem mit ++ bewerteten Excisat fanden sich stark erweiterte, mit Erythrocyten angefüllte Capillaren, außerdem erfolgte ein Austritt von Erythrocyten in das obere Corium.

#### 7.) 72 Std.-Reaktion

Klinisch wurde die Reaktion 1 mal mit +, 2 mal mit + bewertet. Im histologischen Bild war es bei noch verbreiterte Epidermis zu einer deutlichen Abnahme des Rundzellinfiltrates im Vergleich zu den 48 Std.-Reaktionen gekommen.

#### c.) Primärreaktion nach Epicutantest mit 5-fach konzentriertem CKF

Die nach 6 Std. entnommenen Präparate glichen weitgehend denjenigen Bildern, die nach der Verwendung von unkonzentriertem CKF nach 6 Std. beobachtet wurden. Es erschien lediglich, daß das Zellinfiltrat in der oberen Cutis stärker ausgebildet und daß eine größere Beteiligung der neutrophilen Leukocyten festzustellen war. In einem einzigen Präparat fand sich schon eine basale, spongiotische Auflockerung.

Dagegen zeigten die 12 Std.-Reaktionen fast durchwegs follikulär angeordnete, intraepitheliale, vorwiegend mit Neutrophilen angefüllte Pusteln. Auch im corialen Infiltrat war eine stärkere Beteiligung der neutrophilen Leukocyten zu bemerken.

Von den beiden nach 24 Std. entnommenen Präparaten zeigte das eine ein ausgesprochen "toxisches" Bild mit subepidermaler Blasenbildung, Achromasie der Epidermis und einem fast ausschließlich aus Neutrophilen bestehenden Infiltrat in der oberen Cutis; das zweite dagegen entsprach den histologischen Bildern, wie sie nach diesem Zeitpunkt auf das unkonzentrierte CKF gesehen wurden.

Die nach 48 Std. entnommenen Schnitte boten eine Verdickung der Epidermis und ein gegenüber den 24 Std.-Reaktionen kaum stärkeres, diffuses Rundzelleninfiltrat im oberen Corium, vereinzelt fanden sich auch Erythrocytenaustritte aus den Gefäßen.

Die 72 Std.-Reaktionen unterschieden sich von denen auf unkonzentriertes CKF nur dadurch, daß hier oft stark erweiterte, mit Erythrocyten voll gestopfte Gefäße und diffuse Blutastritte im oberen Corium sowie häufige, subcorneale Pustelbildung zu sehen waren.

#### d.) Primärreaktion nach Epicutantest mit 10-fach konzentriertem CKF

Die Histologie der nach 6 und 12 Std. entnommenen Excisate zeigte im Vergleich mit den Reaktionen auf unkonzentriertes CKF zu demselben Zeitpunkt vereinzelt subcorneal gelegene Pusteln sowie größere Beteiligung der neutrophilen Leukocyten am Infiltrat im oberen Corium.

Nach 24 Std. kamen dann gelegentlich herdförmige, basale, spongiotische Auflockerungen dazu. In manchen Präparaten war die Epidermis überhaupt nicht verändert. In anderen wiederum unterschieden sich die Reaktionen in keiner

Weise von den Reaktionen auf unkonzentriertes CKF nach 24 Std.

In den Präparaten, die nach 48 Std. excidiert worden waren, waren dann relativ häufig subcorneale Pusteln, reichlich Neutrophile im Corium und stark erweiterte Gefäße im oberen Corium zu sehen.

e.) Primärreaktion nach Epicutantest mit einer Suspension lebender *Staphylococcus aureus* (haem.)-Stämme

Die nach 3 Std. entnommenen Excisate zeigten im wesentlichen dieselben, histologischen Veränderungen, die auch die Reaktionen auf CKF zu diesem Zeitpunkt aufwiesen. Zu bemerken wäre noch, daß hier im Vergleich zu den Reaktionen auf CKF die Zahl der neutrophilen Leukocyten im Infiltrat im oberen Corium relativ groß war. Es fanden sich aber in einigen Präparaten Infiltrate, die nur aus Rundzellen zusammengesetzt waren. Ein einziges Präparat ließ eine deutliche Achromasie der oberen Epidermis sowie eine massive Vakuolisierung der Epithelzellen erkennen. Ein Präparat zeigte eine massive Follikulitis in Form von Neutrophilenansammlungen in den Follikelostien sowie Pustelbildung im Follikel epithel.

Diese follikulär angeordnete, ausgesprochen spongiotische Pustelbildung war auch in den meisten, nach 6 Std. entnommenen Excisaten zu entdecken. Es fand sich aber auch die schon bei den Reaktionen auf CKF beschriebene Immigration von Rundzellen in die Epidermis aus dem teils diffusen, teils perivascular angeordneten Infiltrat im oberen Corium. In einem Präparat konnte außer eines mäßigen, aus Rundzellen und Neutrophilen zusammengesetzten Infiltrates im oberen Corium keine auffällige Veränderung entdeckt werden.

Die 12 Std.-Reaktionen entsprachen wieder den zu diesem Zeitpunkt excidierten Reaktionen auf CKF. Es wurden auch hier neben vereinzelt subcornealen und follikulären Pusteln basale, spongiotische Auflockerungen in der Epidermis, in die zahlreiche Zellen eingedrungen waren, an denen die neutrophilen Leukocyten aber einen relativ großen Anteil hatten, gesehen. In 2 der insgesamt 7 excidierten Präparate waren neben geringen, cutanen Reaktionen im Sinne eines diffusen Infiltrates im oberen Corium keinerlei epidermale Veränderungen zu bemerken.

Bei den 24 Std.-Reaktionen hatte sich dieses Bild noch weiter entwickelt. Es fanden sich immer wieder intraepitheliale und follikulär angeordnete Pusteln. Es zeigten sich aber regelmäßig spongiotische Auflockerungen in der basalen Epidermis, die aber mit einem gemischten Infiltrat von Rundzellen und neutro-

philen Leukocyten durchsetzt waren. Die Epidermis hatte sich leicht verbreitert.

Bei den 48 und 72 Std.-Reaktionen war diese Verbreiterung der Epidermis deutlich erkennbar. Die Dichte des corialen Infiltrates hatte sich schon wieder vermindert, es bestand auch weiterhin aus Rundzellen mit zahlreichen, neutrophilen Leukocyten durchmischt.

## D. DISKUSSION

Das Bild der allergischen Kontaktreaktion wird beim Menschen wie beim Meerschweinchen durch Gefäßdilatation, Ödem und Exocytose der oberen Cutis und durch Zellinvasion in die Epidermis und Ausbildung spongiotischer Herde in den basalen Epithelschichten bestimmt.

Bei Tests mit Mikroben und Mikrobine finden sich sowohl beim Menschen wie auch beim Meerschweinchen neben diesen Zeichen allergischer Reaktionen -vor allem bei Testungen mit lebenden Keimen- subcorneale Bläschen und Pusteln, die vorwiegend follikulär angeordnet sind, Achromasie und Kernpyknose, wie sie MIESCHER (1961) als Zeichen toxischer Reaktionen beschrieben hat. Solche Bilder bekamen auch STORCK (1948, 1949, 1950), der ja vorwiegend mit lebenden Keimen arbeitete, wie NICOLAU und BADANOIU (1959) und ASADA (1960) zu Gesicht. Auch die hier beschriebenen Ergebnisse von Testungen mit *Staphylococcus aureus* (haem.)-Stämmen könnten ebenfalls in dieser Richtung interpretiert werden, wobei zu bedenken ist, daßINDERBITZIN und FISHER (1963, 1964) bei mit Tuberkelbakterien immunisierten Meerschweinchen nach epicutaner Applikation von Tuberkulin im histologischen Bild der Teststelle ebenfalls neben Infiltraten aus Lymphocyten und lymphocytärer Spongiose Infiltration der Dermis und Epidermis mit polynucleären Leukocyten sahen und dies als ein durch Antikörper vermitteltes, immunologisches Phänomen interpretierten.

Im Gegensatz zu STORCK, der ja auch mit Bouillonkulturfiltraten testete, zu NICOLAU und BADANOIU, die tryptische und peptische Lysate verwendeten, zu ASADA, der auch Kulturfiltrate benutzte, sahen wir mit dem Cellophankulturfiltrat -vor allem mit dem unkonzentriertem- Reaktionen, die durchaus mit den histopathologischen Veränderungen bei auslösenden, allergischen Testreaktionen auf chemisch definierte Substanzen parallel gehen. Bei dem

5- bzw. 10-fach konzentrierten CKF wurden hinwiderum gelegentlich Bilder gesehen, bei denen eine "toxische" Komponente nicht sicher auszuschließen war. Nochmals betont sei, daß wir eine primär-positive Reaktion (auf Mikroben und Mikrobine) mit einer auslösenden Testreaktion nach erfolgter Sensibilisierung (auf einfache chemische Substanzen) vergleichen, nachdem SCHRÖPL, MÜLLER und RÖCKL (1963) darauf hingewiesen hatten, daß die primär-positiven Testreaktionen auf Staphylokokken und CKF histologisch weitgehend identisch mit den auslösenden Testreaktionen nach erfolgter Sensibilisierung gegen lebende Staphylokokken und CKF sind.

Um nun die Ähnlichkeit der beiden Reaktionsweisen besonders deutlich zu machen, seien die hauptsächlichen Befunde nun nochmals in einer Tabelle zusammengestellt. (s. Tabelle IV)

Während der ersten sechs Stunden ist also bei den beiden Reaktionsabläufen kein wesentlicher Unterschied festzustellen. Hier wie dort fand sich als erstes eine Erweiterung der Capillaren im oberen Corium, Emigration von Zellen aus diesen Gefäßen in Richtung der Epidermis, teilweise straßenartige Anordnung dieser evadierten Rundzellen, die wohl dem lymphohistiocytären Zellen zuzuordnen sind. Nach 9 - 12 Std. begann sich der etwas raschere Reaktionsablauf bei den CKF-Reaktionen abzuzeichnen. Regelmäßig waren hier nun basale, herdförmige, spongiotische Auflockerungen in der Epidermis nachzuweisen, die mit unterschiedlicher Zahl von Rundzellen durchsetzt war. Auch nach 24 Std. war bei den Reaktionen auf CKF eine nunmehr etwas diffusere Durchsetzung der basal aufgelockerten Epidermis mit Rundzellen zu bemerken, wobei es in einzelnen Fällen zu deutlicher, intraepidermaler Bläschenbildung gekommen war. Zu späteren Zeitpunkten unterschieden sich die beiden Reaktionsabläufe nunmehr insofern, daß die CKF-Reaktionen im Abklingen waren, während die auslösenden DNCB-Reaktionen noch an Intensität zunahmen. Nach 72 Std. war bei den CKF-Reaktionen außer einer Verdickung der Epidermis und einer mäßigen Orthohyperkeratose ein nur mehr mäßig ausgebildetes coriales Infiltrat zu sehen. Auffällig war dabei ein häufiger vorkommender Erythrocytenaustritt aus den Gefäßen, der, da Insulte bewußt ausgeschaltet worden waren, nicht auf mechanische Reize zurückzuführen ist.

Es besteht also eine weitgehende Identität der primär-positiven Reaktionen beim Meerschweinchen nach epicutaner Testung mit CKF mit den auslösenden Testreaktionen bei vorher sensibilisierten Tieren auf DNCB. Der einzige Unterschied ist der etwas schnellere Ablauf der CKF-Reaktionen, die also nicht anders als allergisch gedeutet werden können. Die Bilder auf lebende Keime entsprechen einmal auch diesen Reaktionen, zum andern gibt es aber auch Reaktionsabläufe, die heute als "toxisch" bezeichnet werden, wobei sicher die Hin-

| Zeitpunkt<br>der Excision | Auslösender Test mit DNCB                                                                                                                                                      | Primär-positiver Test mit CKF                                                                                                                                                   |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 3 Std.                    | Erweiterung der oberflächlichen Capillaren, Ansammlung mononucleärer Zellen, die zur Epidermis aufsteigen.                                                                     | Entspricht der auslösenden DNCB-Reaktion.                                                                                                                                       |
| 6 Std.                    | Verstärkung der nach 3 Std. vorhandenen Veränderungen. Eindringen der Zellen in die Epidermis.                                                                                 | Entspricht der auslösenden DNCB-Reaktion.                                                                                                                                       |
| 9 - 12 Std.               | Perivasale, teilweise diffuse Rundzellinfiltrate im oberen Corium. Leichte Verbreiterung der Epidermis, in die die Rundzellen unter Bildung von Auflockerungszonen eindringen. | Im wesentlichen das gleiche Bild wie bei der auslösenden DNCB-Reaktion. In einzelnen Präparaten treten die epidermalen Veränderungen zugunsten der corialen in den Hintergrund. |
| 24 Std.                   | Mikrovesikeln an den Stellen stärkster mononucleärer Invasion, meist aber gleichmäßige, mononucleäre Durchsetzung der spongiotischen Epidermis.                                | Teilweise Mikrovesikeln, sonst mehr herdförmige, basale, spongiotische Auflockerungen mit mononucleärer Durchsetzung, vereinzelt Pusteln.                                       |
| 48 Std.                   | Reaktion hat ihren Höhepunkt erreicht, generelle mononucleäre Invasion der spongiotisch veränderten, insgesamt verdickten Epidermis.                                           | Höhepunkt der Reaktion bereits überschritten, Epidermisverdickung, nur mehr vereinzelt, basale Spongiosen, Hyperämie.                                                           |
| 72 Std.                   | Vakuolisierung der basalen Epidermisanteile mit Abstossung der Epidermis.                                                                                                      | Verdickung der Epidermis, Rückgang des Infiltrates, gelegentlich Austritt von Erythrocyten ins obere Corium.                                                                    |

TABELLE IV. Gegenüberstellung der histologischen Bilder der auslösenden, epicutanen Testreaktion beim Meerschweinchen auf DNCB (unter Berücksichtigung der Ergebnisse von FISHER und COOKE (1958) und der Zusammenfassung derselben durch MIESCHER (1962) und derjenigen nach erstmaligen, epicutanen, experimentellen Kontakt mit CKF (sog. primär-positive Reaktionen). 31

weise MIESCHER's (1961) und LETTERER's (1961) nicht zu vernachlässigen sind, ob eine solche Klassifikation auf Grund des histomorphologischen Bildes überhaupt getroffen werden kann.

## E. ZUSAMMENFASSUNG

Anhand von 162 Excisaten wird das histologische Bild epicutaner Testreaktionen nach erstmaliger Applikation von lebenden *Staphylococcus aureus* (haem.)-Stämmen bzw. von aus diesen hergestelltem Cellophankulturfiltrat dargestellt. Diese werden dann mit den histologischen Befunden verglichen, wie sie bei den auslösenden Testreaktionen nach erfolgter Sensibilisierung gegen chemisch definierte Substanzen gefunden werden, und mit den Bildern, wie sie beim Menschen nach Testung mit Mikroben und Mikrobinen und mit chemisch definierten Substanzen gesehen werden, in Beziehung gesetzt.

Während die Reaktionen auf lebende Keime nicht ganz einheitlicher Natur waren, zeigten die Reaktionen auf das Cellophankulturfiltrat im histologischen Bild weitgehende Identität mit den auslösenden Testreaktionen nach erfolgter Sensibilisierung mit einfachen chemischen Substanzen.

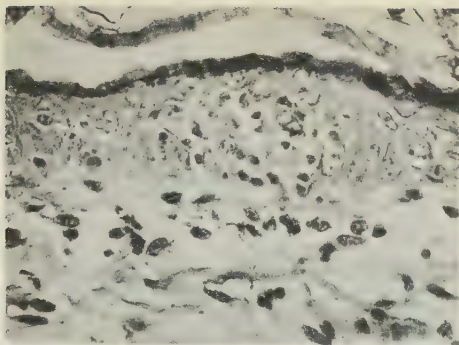


Abb. 1. 9 Std.-Reaktion auf CKF. Invasion der Rundzellen in die spongiotisch aufgelockerte Epidermis.

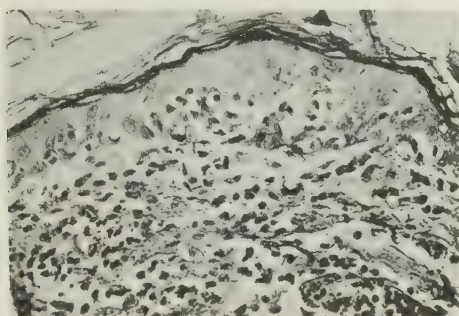


Abb. 2. 12 Std.-Reaktion auf CKF. Dichtes Infiltrat aus Rundzellen im oberen Corium. Rechts unten erweitertes Gefäß. Invasion der Zellen in die Epidermis mit Bildung spongiotischer Hohlräume.

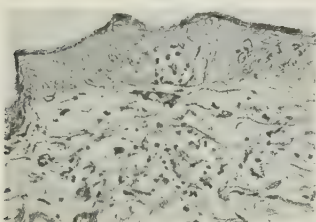


Abb. 3. 24 Std.-Reaktion auf CKF. Basales, herdförmiges, spongiotisches Bläschen.

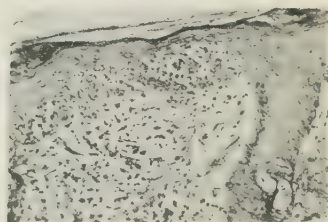


Abb. 4. 48 Std.-Reaktion auf CKF. Rundzellinfiltrat im oberen Corium mit basaler Spongiose.

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. A. MARCHIONINI  $\dagger$  großen Dank  
für die Ehre, an seiner Klinik arbeiten zu dürfen.

Herrn Prof. Dr. H. RÖCKL danke ich für die Überlassung des  
Themas und seine wertvollen Ratschläge, vor allem bei der  
Ausdeutung der histologischen Präparate.

Dank auch der med. -techn. Assistentin Frl. J. Kiefl für die  
Hilfe bei der Herstellung der Keimsuspensionen.

## F. LITERATURVERZEICHNIS

- ASADA, Y.: Acta derm. (Kyoto) 54, 263 (1960), 55, 68 (1960), ref.; Abstracts pag. 2 bzw. 13.
- BAER, R.L., S.A.ROSENTHAL und C.F.SIMS:  
Arch. Derm. (Chicago) 67, 549 (1957).
- BAER, R.L., C.F.SIMS und S.A.ROSENTHAL:  
Hautarzt 10, 199 (1959).
- BANDMANN, H.J.: Hautarzt 11, 258, 302, 310, 355, 393 (1960).
- BEHOUNIKOVA, L., H.MALOTA und E.MARSALEK:  
Allergie und Asthma 5, 326 (1959).
- BENDER, E., M. BOCKHARDT und W. GERLACH:  
Mh. prakt. Derm. 33, 149 (1901).
- BESNIER, E.: La Prctique dermatol. Tom, 2, 1 zitiert KREIBICH.
- BIRCH-HIRSCHFELDT, L.:  
Immun.-Forsch. 81, 26 (1933).
- BLOCH, B.: Z. ges. exp. path. Ther. 9, 1 (1911).
- BLOCH, B., A. STEINER-WOURLISCH:  
Arch. Derm. Syph. (Berlin) 162, 349 (1930).
- BURCKHARDT, W.: Acta derm.-veneor. (Stockh.) 19, 220 (1939).
- CIVATTE, A.: Bull. Soc. franç. Derm. Syph. 32, 134 (1925).
- CHARPY, J., A. STAHL und P. Y. CASTELAIN: in J. CHARPY:  
"Le mécanism physiopathologique de l'eczéma".  
Paris, Masson & Cie (1954).
- FISHER, J.P. und R. A. COOKE:  
J. Allergy 29, 411 (1958).
- FISHER, J.P. und T. INDERBITZIN:  
J. inv. Derm. 41, 419 (1963).
- FLEGEL, H. und W. D. PLÖTZ:  
Derm. Wschr. 147, 215 (1963).

- TZANCK, A. und G.R. MELKI: in J. CHARPY:  
 "Le mécanisme physiopathologique de l'eczéma",  
 Paris, Masson & Cie (1954).
- UNNA, P.G.: Mh. f. prakt. Dermat. 29, 106 (1899).
- UNNA, P.G.: Ekzem im MRACEKS Handbuch d. Haut- und Geschl.  
 Krht. Bd. 2, Wien, A. Höller (1905), zitiert nach  
 KREIBICH.
- WALTHARD, B.: Schweiz. med. Wschr. 24, 603 (1926).
- WALTHARD, B.: Arch. Derm. Syph. (Berlin) 156, 173 (1928).
- WECK, R. DE und R. BRUN:  
 Dermatologica (Basel) 113, 335 (1956).
- WILLAN, R.: Die Hautkrht. und ihre Behandlung, systematisch be-  
 schrieben, übersetzt von F.G. FRIESE, Breslau (1799,  
 1806), zitiert KREIBICH.
- ZELIGMANN, J.: J. inv. Derm. 22, 109 (1954).

## G. LEBENSLAUF

Ich wurde am 11. 8. 1936 in Chotieschau in Westböhmen als Sohn des prakt. Arztes Dr. Hans Loew geboren. Nach dem Besuch des humanistischen Gymnasiums in Weiden in der Oberpfalz begann ich das Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, an der ich auch -nach einem Gastsemester in Wien- 1959 das Physikum und 1962 das medizinische Staatsexamen bestand. Danach arbeitete ich als Medizinalassistent an der Dermatologischen Universitätsklinik München und am Städt. Krankenhaus in Weiden. Nach der Approbation am 31. Oktober 1964 bin ich als Assistentarzt am Städt. Krankenhaus in Weiden tätig.

- TZANCK, A. und G.R. MELKI: in J. CHARPY:  
 "Le mécanisme physiopathologique de l'eczéma",  
 Paris, Masson & Cie (1954).
- UNNA, P. G.: Mh. f. prakt. Dermat. 29, 106 (1899).
- UNNA, P. G.: Ekzem im MRACEKS Handbuch d. Haut- und Geschl.  
 Krht. Bd. 2, Wien, A. Höller (1905), zitiert nach  
 KREIBICH.
- WALTHARD, B.: Schweiz. med. Wschr. 24, 603 (1926).
- WALTHARD, B.: Arch. Derm. Syph. (Berlin) 156, 173 (1928).
- WECK, R. DE und R. BRUN:  
 Dermatologica (Basel) 113, 335 (1956).
- WILLAN, R.: Die Hautkrht. und ihre Behandlung, systematisch be-  
 schrieben, übersetzt von F. G. FRIESE, Breslau (1799,  
 1806), zitiert KREIBICH.
- ZELIGMANN, J.: J. inv. Derm. 22, 109 (1954).

## G. LEBENSLAUF

Ich wurde am 11. 8. 1936 in Chotieschau in Westböhmen als Sohn des prakt. Arztes Dr. Hans Loew geboren. Nach dem Besuch des humanistischen Gymnasiums in Weiden in der Oberpfalz begann ich das Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, an der ich auch -nach einem Gastsemester in Wien- 1959 das Physikum und 1962 das medizinische Staatsexamen bestand. Danach arbeitete ich als Medizinalassistent an der Dermatologischen Universitätsklinik München und am Städt. Krankenhaus in Weiden. Nach der Approbation am 31. Oktober 1964 bin ich als Assistenzarzt am Städt. Krankenhaus in Weiden tätig.





